

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a) autor(a), o texto completo desta dissertação será disponibilizado somente a partir de 28/11/2026.

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”

FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA

EXPRESSÃO DOS RECEPTORES CB1 E CB2 EM
NEOPLASIAS MALIGNAS CANINAS

LUANA RODRIGUES MUNIZ

Botucatu, SP

Novembro - 2025

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”

FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA

EXPRESSÃO DOS RECEPTORES CB1 E CB2 EM NEOPLASIAS
MALIGNAS CANINAS

LUANA RODRIGUES MUNIZ

Dissertação apresentada junto ao Programa
de Pós-Graduação em Medicina Veterinária
para obtenção do título de Mestre.

Orientadora: Prof. Dr^a. Renee Laufer-
Amorim

FICHA CATALOGRÁFICA

M966e	Muniz, Luana Rodrigues EXPRESSÃO DE RECEPTORES CB1 E CB2 EM NEOPLASIAS MALIGNAS CANINAS / Luana Rodrigues Muniz. -- Botucatu, 2025 55 p. : tabs., 3 v. Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista (UNESP), Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Botucatu Orientadora: RENEE LAUFER-AMORIM 1. Sistema endocanabinoide. 2. Biomarcadores. 3. Câncer. 4. Veterinária. 5. Canabinoides. I. Título.
-------	--

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp.
Dados fornecidos pelo autor(a).

Nome do autor (a): Luana Rodrigues Muniz

TÍTULO: EXPRESSÃO DOS RECEPTORES CB1 E CB2 EM
NEOPLASIAS MALIGNAS CANINAS

COMISSÃO EXAMINADORA

Profa. Dra. Renée Laufer Amorim
Presidente e Orientadora
Departamento de Clínica Veterinária
FMVZ - UNESP - Botucatu/SP

Prof. Dr. Erik Amazonas, de Almeida
Membro
Departamento de Biociências e Saúde única, UDSC - Curitibanos/SC

Prof.^a Dra. Patrícia Paiva Lima
Membro
Departamento de Farmacologia Veterinária, UNISEP - Pato Branco/PR.

Data da defesa: 28 de novembro de 2025

DEDICATÓRIA

A realização deste mestrado foi uma jornada intensa, cheia de desafios, descobertas e coragem, especialmente por abordar um tema ainda polêmico. Mas coragem compartilhada é força multiplicada, e eu tive a sorte de estar cercada por pessoas que me impulsionaram a seguir.

À minha mãe, minha fortaleza e porto seguro, agradeço por sua garra e amor incondicional. Foi sua força que me ensinou a não desistir, e seu exemplo que me fez chegar até aqui. Aos meus avós maternos, que me ensinaram o amor pela natureza e o respeito por tudo o que nela vive. Levo comigo a sabedoria e o carinho que moldaram minha forma de ver o mundo.

Aos colegas unespianos, minha sincera gratidão pela amizade e pela parceria. As conversas, os risos e as trocas tornaram o caminho mais leve. Aos professores, meu agradecimento pela generosidade em compartilhar conhecimento com tanta paixão. Cada orientação e conselho me transformaram para além do crescimento profissional.

E, com um carinho especial, à minha orientadora Renee, que foi muito mais que uma mentora, foi uma verdadeira mãe acadêmica. Uma mulher que admiro profundamente pela força, ética e bondade. Sua dedicação à ciência é inspiradora, e sua humanidade, um exemplo raro. Tenho orgulho de ter aprendido com alguém que ensina com leveza e sabedoria (e ainda consegue manter o bom humor nas situações mais caóticas). Seu nome, Renee, vai comigo e com todos os curiosos e sonhadores que tiveram o privilégio de cruzar seu caminho.

A todos vocês, meu sincero e afetuoso agradecimento.

Este trabalho é a soma de muitas mãos, mentes, corações e o reflexo da confiança que depositaram em mim.

Com gratidão e carinho, Luana R. Muniz

“Dedico a todos que me ajudaram nesta caminhada, cultivando gestos de amor e afeto, e que jamais compactuam com discursos de ódio ou qualquer forma de preconceito”.

6. AGRADECIMENTOS

"O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001".

"This study was financed in part by the Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Finance Code 001".

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Alterações na expressão dos receptores canabinoides CB1 e CB2 em diferentes tipos de câncer e suas influências clínicas, como progressão tumoral, grau histológico, sobrevida e metástase.

Tabela 2: Sequência Dos Primers Utilizados Para As Reações De Qrt-PCR Nas Amostras Do Estudo.

Tabela 3: Mediana dos QRs da expressão gênica do CB1 e CB2 nos grupos histológicos avaliados separadamente.

Tabela Suplementar 1: Dados clínicos de todos casos avaliados e respectivas medidas do QRs de CB1 e CB2.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Representação Esquemática Da Atividade Do SEC. Os Ecs Estão Sendo Sintetizados Na Membrana Dos Neurônios Pós-Sinápticos Sob Demanda Após Influxo De Ca^{2+} (1). Eles Ativam Os Receptores Pré-Sinápticos CB1 E Restringem A Atividade Neural (2).

Figura 2: Mediana dos QRs da expressão gênica das neoplasias avaliadas e seus respectivos controles. CTR *CB1* (tecido cerebral). CTR *CB2* (linfonodo).

LISTA DE ABREVIações

2-AG – 2-Araquidonoilglicerol

AEA – Anandamida

AKT – Proteína quinase B

BAX – Proteína proapoptótica

Bcl-2 – Proteína antiapoptótica

CB1 – Receptor Canabinoide tipo 1

CB2 – Receptor Canabinoide tipo 2

CBD – Canabidiol

CBDA – Ácido Canabidiólico

rCB – Receptores Canabinoides

CBRs – Receptores canabinoides

cMCTs – Mastocitomas caninos

CNS – Central Nervous System

COX-2 – Ciclooxygenase-2

DNA – Ácido desoxirribonucleico

eCB - Endocanabinoides

EGF – Fator de Crescimento Epidérmico

EGFR – Receptor do Fator de Crescimento Epidérmico

EMA – European Medicines Agency

EMT – Transição epitélio-mesenquimal

ERK – Extracellular signal-regulated kinase

FAAH – Amida Hidrolase de Ácido Graxo

fCB - Fitocanabinoides

FDA – Food and Drug Administration

GPR – Receptores acoplados à proteína G

GPR55 – Receptor acoplado à proteína G 55

H&E – Hematoxilina e eosina

IHC – Immunohistochemistry

IHQ – Imuno-histoquímica

IC50 – Concentração inibitória 50%

ID – Identidade

IL – Interleucina

IL-10 – Interleucina 10

IL-6 – Interleucina 6

LPS – Lipopolissacarídeo

MAGL – Monoacilglicerol Lipase

MAPK – Proteína quinase ativada por mitógeno

MCT – Mastocitoma

mRNA – RNA mensageiro

MMPs – Metaloproteinases de matriz

mTOR – Alvo da rapamicina em mamíferos

NADA - N-araquidonildopamina

NF-κB – Fator nuclear kappa B

PCR – Reação em cadeia da polimerase

PET – Tomografia por emissão de pósitrons

PI3K – Fosfatidilinositol 3-quinase

PPAR – Receptores ativados por proliferadores de peroxissoma

qPCR – Reação em cadeia da polimerase quantitativa

RNA – Ácido ribonucleico

ROS – Espécies Reativas de Oxigênio

RT – Transcrição reversa

SEC – Sistema Endocanabinoide

SNC – Sistema Nervoso Central

TGF- β – Fator de crescimento transformante beta

THC – Tetraidrocanabinol

TME – Microambiente tumoral

TNF- α – Fator de necrose tumoral alfa

VEGF – Fator de Crescimento Endotelial Vascular

VEGFR1 – Receptor 1 do VEGF

VEGFR2 – Receptor 2 do VEGF

VET – Veterinária

WHO – World Health Organization

VR1 - Receptor Vanilóide

TRPV1 - Transient Receptor Potential Vanilloid 1

GPR55 - G protein-coupled receptor 55

PEA - Palmitoiletanolamina

OEA - Oleoiletanolamida

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	13
2. REVISÃO DE LITERATURA	14
2.1 SISTEMA ENDOCANABINOIDE	14
2.2 ENDOCANABINOIDES	16
Tabela 1: Alterações na expressão dos receptores canabinoides CB1 e CB2 em diferentes tipos de câncer e suas influências clínicas, como progressão tumoral, grau histológico, sobrevida e metástase.	20
2.5 AÇÃO ANTITUMORAL DOS FITOCANABINOIDES	23
3. OBJETIVOS	25
3.1 OBJETIVO GERAL	25
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	25
4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	26
CAPÍTULO 2	31
RESUMO	31
ABSTRACT	32
2. MATERIAIS E MÉTODOS	35
2.1 SELEÇÃO DE AMOSTRAS	35
2.2 EXTRAÇÃO DE RNA E CONFEÇÃO DE cDNA:	36
2.3 AVALIAÇÃO DA EXPRESSÃO DOS mRNA DIFERENCIALMENTE EXPRESSOS POR PCR QUANTITATIVO EM TEMPO REAL (qPCR)	37
Tabela 2: Sequência Dos Primers Utilizados Para As Reações De Qrt-PCR Nas Amostras Do Estudo.	38
Tabela 3: Mediana dos QRs da expressão gênica do CB1 e CB2 nos grupos histológicos avaliados separadamente.	41
4. DISCUSSÃO	42
5. CONCLUSÃO	45
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	47
CAPÍTULO 3	51
CONSIDERAÇÕES FINAIS	51
Tabela Suplementar 1: Dados clínicos de todos casos avaliados e respectivas medidas do QRs de CB1 e CB2.	52

CAPÍTULO 1

1.INTRODUÇÃO

O uso de *Cannabis sativa* e seus derivados na medicina remonta a séculos, tendo um grande avanço científico após a descoberta do sistema endocanabinoide (SEC) na década de 60, formado pelos receptores canabinoides (rCB) da família GPCR, amplamente distribuídos no sistema nervoso central (SNC) e imunológico, regulando funções fisiológicas por meio de ligantes endógenos, os chamados endocanabinoides (ECs) (RIBEIRO, 2007; SILVA, 2021; McCABE, 2021).

A planta da espécie *Cannabis sativa* possui compostos chamados de fitocanabinoides (FCs), estes dispõem de uma semelhança estrutural com os ECs e, portanto, podem empregados como ligantes exógenos do SEC, o que torna a *Cannabis* uma opção terapêutica para diferentes afecções (GERDEMAN, 2010; KANDER, 2015; MCCABE, 2021).

Ensaios clínicos *in vitro* e *in vivo* mostram que o uso de FCs pode reduzir os efeitos colaterais da quimioterapia, o que fomentou pesquisas sobre a relação entre o SEC e o câncer (ROCK et al. 2013; BAR-SELA, 2019; SILVA, 2021). Decorrente desse avanço científico, demonstrou-se que a regulação do SEC está relacionada à ativação de vias apoptóticas, exibindo atividade antitumoral, e que a expressão anômala dos rCB em células neoplásicas está associada à progressão e agressividade do câncer (ZHU, 2003; MIMEMAULT, 2003; PYSZNIAK, 2016; HENRY et al., 2020; RINALDI et al., 2022; RINALDI et al., 2024).

Este estudo tem por objetivo caracterizar a expressão gênica dos receptores *CB1* e *CB2* em neoplasias caninas, considerando seu papel na biologia tumoral. A identificação de perfis pode representar uma ferramenta diagnóstica potencial para auxiliar na estratificação tumoral e no delineamento prognóstico, além de subsidiar terapias adjuvantes capazes de otimizar protocolos quimioterápicos e reduzir seus efeitos colaterais.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALPINI, G.; DEMORROW, S. **Changes in the endocannabinoid system may provide insights into new and effective treatments for cancer.** Elsevier, v. 81, 2016.
- BASU, S.; RAY, A.; DITTEL, B. **Cannabinoid receptor 2 is critical for the homing and retention of marginal zone B lineage cells and for efficient T-independent immune responses.** The Journal of Immunology, v. 187, n. 11, p. 5720-5729, 2011.
- BETTIGA, A. et al. **Growth and motility of bladder cancer cells implicates cannabinoid receptor 2-mediated modifications of sphingolipid metabolism.** Scientific Reports, v. 7, p. 42157, 2017.
- BLÁZQUEZ, C. et al. **Cannabinoid receptors as new targets for melanoma treatment.** The FASEB Journal, 2007.
- CAFFAREL, M. M. et al. **Δ9-Tetrahydrocannabinol inhibits cell cycle progression in human breast cancer cells through Cdc2 regulation.** Cancer Research, v. 66, n. 13, p. 6615-6621, 2006.
- CALHEIROS, L. G. R. et al. **In Vitro Antitumor Effect of Oils Rich in CBD and THC Cannabis Extract in Canine Prostate Carcinoma Cell Lines.** Veterinary Sciences, 2024.
- COPAS, G.; AMAZONAS, E.; BRANDON, S. **The Pharmacology of Cannabinoids.** In: CITAL, S. et al. *Cannabis Therapy in Veterinary Medicine*. 1ª ed. Switzerland: Springer, p. 17-50, 2021.
- DE FONSECA, F.R., et. al. **The endocannabinoid system: physiology and pharmacology.** Alcohol Alcohol., v. 40, n. 1, p. 2-14, 2005.
- GALVE-ROPERH, I., et al. **Anti-tumoral action of cannabinoids: Involvement of sustained ceramide accumulation and extracellular signal-regulated kinase activation.** Nat Med 6, 313–319, 2000.
- HENRY, J.G. et al. **The effect of cannabidiol on canine neoplastic cell proliferation and mitogen-activated protein kinase activation during autophagy and apoptosis.** Veterinary and Comparative Oncology, 2020.
- KANDER, J. **Cannabis in treatment of cancer: The Anticancer Activity of Phytocannabinoids and Endocannabinoids.** 1ª ed. 2015.
- LALIBERTE, S. **Assessment of cannabinoid receptor expression and anti-neoplastic effects of cannabidiol (CBD) in canine urothelial carcinoma cells.** 2022. [Ph.D. thesis] - University of Guelph.
- LIVAK, K. J.; SCHMITTGEN, T. D. **Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2(-Delta Delta C(T) Method.** Methods. 2001 Dec; 25(4):402-8.

LORIMER, L.P. et al. **Cannabinoids in Oncology and Immune Response**. In: CITAL, S. et al. *Cannabis Therapy in Veterinary Medicine*. 1^a ed. Switzerland: Springer, p. 231-262, 2021.

LUCA, T.; et al. **The CB1/CB2 receptor agonist WIN-55,212-2 reduces viability of human Kaposi's sarcoma cells in vitro**. *European Journal of Pharmacology*, v. 616, n. 1–3, p. 16–21, 2009.

MACKIE, K. **Cannabinoid Receptors: Where They are and What They**. *J. of Neuro.*, v. 20, n. 1, p. 10-14, 2008.

MCCABE, M.; CITAL, S. **Cannabinoids for gastrointestinal health**. In: CITAL, S. et al. *Cannabis Therapy in Veterinary Medicine*. 1^a ed. Switzerland: Springer, 2021.

MCKALLIP, R. J.; NAGARKATTI, M.; NAGARKATTI, P. S. **Delta-9-tetrahydrocannabinol increases breast cancer growth and metastasis by suppressing the antitumor immune response**. *Journal of Immunology*, v. 174, n. 6, p. 3281–3289, 2005. DOI: 10.4049/jimmunol.174.6.3281.

MECHOULAM, R.; FRIDE, E.; DI MARZO, V. **Endocannabinoids**. *Eur. J. Pharmacol.*, v. 359, n. 1, p. 1-18, 1998.

MILLER, M.O.B., et. al. **Cannabis and cannabinoid drug development: evaluating botanical versus single molecule approaches**. *Int. Rev. Psychiatry*, v. 30, n. 3, p. 277-284, 2018.

MIMEMAULT, M. et al. **Anti-proliferative and apoptotic effects of anandamide in human prostatic cancer cell lines: Implication of epidermal growth factor receptor down-regulation and ceramide production**. *Prostate*, v. 56, p. 263-272, 2003.

MOREIRA, F.. **O Sistema Endocanabinoide**. In: Zuardi, A.W., et. al. *Cannabis e Saúde Mental* – 1^a ed. São Paulo: FUNPEC, p. 35-49, 2008.

NAVARINI, L., & DOMENICO, P. E. M., GALLO AFFLITTO, G., & AFELTRA, A. **Cannabinoids in autoimmune and rheumatic diseases**. In: C. PERRICONE, Y. 39, 2019.

PERSIDSKY, Y. **Cannabinoid receptor 2: Potential role in immunomodulation and neuroinflammation**. 1a ed V8. Switzerland: Springer, 2013.

PERTWEE, R.G. **Cannabinoid pharmacology: the first 66 years**. *Br. J. Pharmacol.*, v. 147, n. 1, p. 163-171, 2006.

PERTWEE, R.G. **International Union of Basic and Clinical Pharmacology. LXXIX. Cannabinoid Receptors and Their Ligands: Beyond CB1 and CB2**. *Pharmacol. Rev.*, v. 62, n. 4, p. 588-631, 2010.

PIMENTEL, P. A. B.; GIULIANO, A.; BĘCZKOWSKI, P. M.; HORTA, R. D. S. **Molecular profile of canine hemangiosarcoma and potential novel therapeutic targets**. *Veterinary Sciences*, v. 10, n. 6, p. 387, 2023.

- PUNZO, F. et al. **Antiproliferative, pro-apoptotic, and anti-invasive effects of the EC/EV system in human osteosarcoma.** *Oncotarget*, v. 8, n. 33, p. 54459-54471, 13 Apr. 2017.
- PYSZNIAK, M.; TABARLEWICZ, J.; ŁUSZCZKI, J. J. **Endocannabinoid system as a regulator of tumor cell malignancy – biological pathways and clinical significance.** *OncoTargets and Therapy*, v. 9, p. 4323–4336, 2016.
- RIBEIRO, S.; LOPES, R.M. **História.** In: RIBEIRO, S. *Maconha, Cérebro e Saúde*. 1ª ed. Rio de Janeiro: Vieira e Lent, 2007.
- RINALDI, V. et al. **Circulating endocannabinoids in canine cutaneous mastocytosis tumor.** *Animals*, v. 14, n. 20, p. 2986, 2024.
- RINALDI, V. et al. **Expression of cannabinoid receptors CB1 and CB2 in canine cutaneous mast cell tumours.** *Research in Veterinary Science*, v. 152, p. 530-536, 2022.
- ROCK, A.M. et al. **Tetrahydrocannabinolic acid reduces nausea-induced conditioned gaping in rats and vomiting in *Suncus murinus*.** *British Journal of Pharmacology*, v. 170, p. 641-648, 2013.
- RONCATI, L. et al. **Immunohistochemical expression of cannabinoid receptors in women's cancers: what's new?** *European Journal of Gynaecological Oncology*, v. 42, n. 2, p. 193-195, Apr. 2021.
- ROSSI, F. et al. **The Endocannabinoid/Endovanilloid System in Bone: From Osteoporosis to Osteosarcoma.** *International Journal of Molecular Sciences*, v. 20, n. 8, p. 1919, 18 Apr. 2019.
- RUSSO, E.B. **Taming THC: potential cannabis synergy and phytocannabinoid-, terpenoid entourage effects.** *Br. J. Pharmacol.*, v. 163, n. 7, p. 1344-1364, 2011.
- SANTOS, L.A. **Neurobiologia, farmacologia, efeitos agudos, crônicos e neuropsicológicos do uso da maconha.** In: Diehl, A., Pilon, S.C. *MACONHA: Prevenção, Tratamento e Políticas Públicas – 1ª ed.* Porto Alegre: ArtMed, p. 25-34, 2021.
- SCUDERI, M. R. et al. **The antimitogenic effect of the cannabinoid receptor agonist WIN55212-2 on human melanoma cells is mediated by lipid raft mechanisms.** *Cancer Letters*, v. 310, n. 2, p. 240–249, 2011.
- SILVA, A.K.; JANOVIK, N.; OLIVEIRA, R.R. **Canabidiol e seus Efeitos Terapêuticos.** In: Diehl, A., Pilon, S.C. *MACONHA: Prevenção, Tratamento e Políticas Públicas – 1ª ed.* Porto Alegre: ArtMed, p. 101-110, 2021.
- SILVER, R. **The Endocannabinoid System and Endocannabinoidome.** In: CITAL, S. et al. *Cannabis Therapy in Veterinary Medicine*. 1ª ed. Switzerland: Springer, p. 1-13, 2021.

TAMBURINI, B. A.; et al. **Gene expression profiles of sporadic canine hemangiosarcoma are uniquely associated with breed.** PLoS ONE, v. 4, n. 5, 2009.

TURCOTTE, C.; et al. **The CB receptor and its role as a regulator of inflammation.** 1ª ed. Switzerland: Springer, 2016.

VELASCO, G.; SÁNCHEZ, C.; GUZMÁN, M. **Anticancer mechanisms of cannabinoids.** Current Oncology, 2016.

XU, F. et al. **Cannabidiol promotes apoptosis in osteosarcoma cells in vitro and in vivo, activating the SP1-CBX2 axis.** Journal of Translational Research, v. 14, n. 2, p. 1188-1203, 2022.

YAMADA, T. et al. **TRPV2 activation induces cell death apoptosis in human T24 bladder cancer cells: a potential therapeutic target for bladder cancer.** Urology, v. 76, n. 2, p. 509.e1-509.e7, 2010.

YANG, J.; TIAN, Y.; ZHENG, R.; LI, L.; QIU, F. **Endocannabinoid system and the expression of endogenous ceramides in human hepatocellular carcinoma.** Oncology Letters, v. 18, n. 2, p. 1530–1538, 2019.

ZHAO, Z. et al. **Cannabinoid receptor 2 is acutely regulated in melanoma.** Journal of Cancer Research and Therapeutics, v. 8, n. 4, p. 549-554, Oct.-Dec. 2012.

ZHU, X.F. et al. **Ceramide induces cell cycle arrest and upregulates p27kip in nasopharyngeal carcinoma cells.** Cancer Letters, v. 202, p. 99-106, 2003.

ZUARDI, A.W. **Aspectos Históricos da Cannabis na Medicina e em Saúde Mental.** In: Zuardi, A.W., et. al. *Cannabis e Saúde Mental* – 1ª ed. São Paulo: FUNPEC, 2008.